Test CEDIA® Métabolites de méthadone (EDDP)



IVD Pour Usage Diagnostique In Vitro

REF 10016421 (3 x 17 mL Indiko Kit)
100087 (Coffert de 3 x 17 mL)
100096 (Coffert de 65 mL)
1868217 (Coffert de 495 mL)

Application

Le test CEDIA® Métabolites de méthadone (EDDP) est un dispositif médical pour usage diagnostique in vitro permettant le dosage qualitatif et semi-quantitatif de l'EDDP (2-éthylidine-1, 5-diméthyl-3, 3 diphénylpyrrolidine) dans l'urine humaine.

Ce test ne fournit qu'un résultat provisoire. Il est nécessaire de confirmer les résultats obtenus à l'aide d'une méthode de diagnostic plus spécifique. Utiliser dans ce cas de préférence la chromatographie gazeuse/spectrophotométrie de masse (CG/EM).[1] Les résultats de ce test doivent être interprétés avec circonspection en tenant compte du tableau clinique et de l'avis d'un professionnel afin d'envisager la possibilité d'un abus de drogue, en particulier si des résultats positifs préliminaires ont été obtenus.

Résumé et description du test Sensitivität

Bei qualitativer Untersuchung lag die Nachweisgrenze bei 6,3 ng/mL. Bei semiqualitativer Untersuchung lag die Nachweisgrenze bei 2,0 ng/mL. L'EDDP est le métabolite primaire de la méthadone.[2] La méthadone est un agoniste synthétique de l'opium dérivé du diphénylheptane fréquemment utilisé dans des programmes de désintoxication comme substitut oral de l'héroïne et d'autres drogues proches de la morphine ; son rôle est de supprimer les symptômes liés à la désintoxication et/ou de limiter les rechutes chroniques des toxicomanes.[3-7]

La mesure de l'EDDP plutôt que celle de la méthadone thérapeutique permet de déceler les personnes sous traitement qui vendent leur méthadone sur le marché illicite de la drogue et surchargent leur urine avec une petite quantité de méthadone pour dissimuler le détournement.[8] Leur échantillon peut être positif pour la méthadone mais ne serait pas positif pour l'EDDP puisque la drogue n'aura pas été ingérée et donc pas métabolisée.

Le test CEDIA Métabolites de méthadone utilise la technologie de l'ADN recombinant (brevet US no 4708929) et correspond à une méthode immunoenzymologique en phase homogène unique.[9] Ce test utilise la â-galactosidase qui a eté scindée en deux fragments inactifs par génie génétique. Ces fragments se réassocient spontanément pour former une enzyme pleinement active qui, lors de la réaction, fragmente un substrat, produisant ainsi un changement de coloration que l'on peut mesurer par spectrophotométrie.

Durant le test, l'analyte de l'échantillon entre en compétition avec l'analyte conjugué à un des fragments inactifs de la β-galactosidase pour se fixer sur les sites de liaison des anticorps. Si un analyte se trouve dans l'échantillon, il se fixe sur les anticorps, laissant ainsi les fragments inactifs former une enzyme active. Si l'échantillon ne contient pas d'analyte, l'anticorps se lie à l'analyte conjugué du segment de l'enzyme inactif, entravant la réassociation des fragments d'enzyme inactifs, ce qui empêche la formation d'une enzyme active.

La quantité d'enzyme active produite et la modification d'extinction correspondante sont directement proportionnelles à la concentration de médicament dans l'échantillon.

Réactifs

1 **Tampon de reconstitution de l'EA:** Contient pipérazine-N, N-bis [2-acide éthanesulfonique]; 0,66 µg/mL anticorps monoclonaux de souris anti-EDDP; sels tampons, stabilisant; conservateur.

1a **Réactif EA:** Contient 0,171 g/L Enzyme Accepteur; sels tampons; détergent; conservateur.

2 **Tampon de reconstitution de l'ED:** Contient pipérazine-N, N-bis [2-acide éthanesulfonique]; sels tampons; conservateur.

2a **Réactif ED:** Contient 16,0 µg/L Enzyme Donneur marqué à un dérivé d'EDDP; 1,67 g/L rouge de chlorophénol-β-D-galactopyranoside; stabilisant; conservateur.

Matériel supplémentaire: Etiquettes de code à barres de remplacement (Réf.100087 et 100096 uniquement. Se référer à la fiche technique spécifique à l'analyseur pour le mode d'emploi). Flacon vide d'analyseur pour le surplus de solution d'ED (Réf. 1868217 uniquement).

Matériel supplémentaire requis (vendu individuellement) :

- Calibrateur négatif CEDIA
- Calibrateur multi-drogues CEDIA, Seuils primaires ou secondaires, Seuils cliniques primaires ou Seuils optionnels
- Calibrateur multi-drogues moyen CEDIA
- Calibrateur multi-drogues haut CEDIA
- Groupe de témoins multi-drogues CEDIA, Groupe de témoins multi-drogues cliniques, Groupe de témoins spéciaux ou Groupe de témoins multi-drougues optionnels

⚠ Avertissements et mises en garde

Les réactifs contiennent de l'azide de sodium. Eviter le contact avec la peau et les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau. En cas de projection dans l'œil ou d'ingestion, consulter immédiatement un médecin. L'azide de sodium peut réagir dans les conduites de plomb ou de cuivre pour former des azides de métaux explosifs. Pour éliminer les réactifs, il convient donc d'utiliser beaucoup d'eau, afin d'éviter les dépôts. Nettoyer les surfaces exposées à l'aide de soude à 10%.

Préparation et conservation des réactifs

Préparation des solutions pour les analyseurs Hitachi: voir ci-dessous. Pour tous les autres analyseurs, se référer à la fiche technique spécifique de chaque appareil. Sortir le coffret du réfrigérateur juste avant la préparation des solutions.

Préparer les solutions dans l'ordre ci-dessous afin d'éviter toute contamination.

R2 Solution Enzyme Donneur: Relier le flacon 2a (réactif ED) au flacon 2 (tampon de reconstitution ED) à l'aide de l'un des raccords contenus dans le coffret. Mélanger par retournements successifs, en veillant à ce que le lyophilisat (flacon 2a) soit entièrement transvasé dans le flacon 2. Eviter la formation de mousse. Séparer du flacon 2 le flacon 2a et le raccord et les jeter. Reboucher le flacon 2 et le laisser reposer en position verticale pendant environ cinq minutes à une température ambiante (15 à 25°C). Mélanger à nouveau. Inscrire la date de reconstitution sur l'étiquette du flacon.

R1 Solution Enzyme Accepteur: Relier le flacon 1a (réactif ED) au flacon 1 (tampon de reconstitution ED) à l'aide de l'un des raccords contenus dans le coffret. Mélanger par retournements successifs, en veillant à ce que le lyophilisat (flacon 1a) soit entièrement transvasé dans le flacon 1. Eviter la formation de mousse. Séparer du flacon 1 le flacon 1a et le raccord et les jeter. Reboucher le flacon 1 et le laisser reposer en position verticale pendant environ cinq minutes à une température ambiante (15 à 25°C). Mélanger à nouveau. Inscrire la date de reconstitution sur l'étiquette du flacon.

Réf. 100096 - Analyseur Hitachi 717, 911, 912 ou 914: Transférer les réactifs reconstitués dans les flacons vides R1 et R2 de 100 mL correspondants fournis avec le nécessaire. **Hitachi 917/ Modular Analytics P:** Utiliser les réactifs reconstitutés sans transfert de flacons. Jeter les flacons de 100 mL vides.
Pour réf. 1868217 - Analyseur Hitachi 747/Modular Analytics D: Utiliser l'entonnoir contenu dans le coffret pour transférer une partie de la solution R2 dans le flacon à solution R2 vide étiqueté.

REMARQUE 1: Les composants contenus dans ce coffret ne peuvent être utilisés séparément. Ne pas mélanger de composants venant de lots différents.
REMARQUE 2: Attention de ne pas intervertir les bouchons des flacons de réactifs pour éviter une contamination mutuelle des solutions. La solution R2 doit être jaune-orangé. La solution est contaminée en cas de coloration rouge sombre ou rouge-violette et doit alors être jetée.
REMARQUE 3: Les solutions R1 et R2 doivent être amenées à la température du compartiment de stockage de l'analyseur et ce avant l'emploi. Pour des informations supplémentaires, se référér à la fiche techniques spécifique de chaque appareil.
REMARQUE 4: Pour assurer la stabilité de la solution EA reconstituée, ne pas l'exposer de façon prolongée ou continue à une forte lumière.

Conserver les réactifs entre 2 et 8°C. **NE PAS CONGELER.** Pour la stabilité des composants non ouverts, se référer aux étiquettes de la boîte ou des flacons pour la date de péremption.

Solution R1: 60 jours si elle est conservée dans le compartiment réfrigéré de l'analyseur ou entre 2 et 8°C.
Solution R2: 60 jours si elle est conservée dans le compartiment réfrigéré de l'analyseur ou entre 2 et 8°C.

Prélèvement et manipulation des échantillons

Recueillir l'urine dans des récipients propres en verre ou en plastique. Les échantillons présentant une forte turbidité doivent être centrifugés avant d'être analysés. Manipuler tous les échantillons d'urine humaine comme potentiellement infectieux. Obtenir un autre échantillon à tester si l'on soupçonne une adultération de l'échantillon d'origine. L'adultération des échantillons d'urine peut fausser les résultats du test.

Les échantillons qui ne sont pas soumis à l'analyse dans les 7 jours suivant leur arrivée au laboratoire doivent être conservés dans des réfrigérateurs fermés à clé *(Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs; Final Guidelines; Notice).*[10]

Analyse

Pour réaliser ce test, on peut utiliser des analyseurs chimiques capables de maintenir une température constante, de prélever des échantillons à la pipette, de mélanger les réactifs, de mesurer les taux enzymatiques et de réaliser la réaction dans les délais. Des fiches techniques indiquant les paramètres spécifiques à l'instrument sont disponibles auprès de Microgenics, une division de Thermo Fisher Scientific.

Des étiquettes à code à barres supplémentaires sont fournies pour la détermination quantitative avec les nécessaires de 17 et 65 mL uniquement. Pour changer l'étiquetage, coller une nouvelle étiquette sur l'ancienne de chaque flacon.

Contrôle de qualité et calibration [11]

Détermination qualitative

Les calibrateurs CEDIA multi-drogues, seuil primaire ou secondaire contiennent 100 ng/mL EDDP. L'un ou l'autre peut être utilisé comme calibrateur de seuil pour l'analyse qualitative des échantillons. Pour les analyseurs Hitachi, le calibrateur correspondant au seuil sélectionné est placé dans la position standard appropriée (S1) sélectionnée par'utilisateur. Pour tous les autres analyseurs, se référér a la fiche technique spécifique a l'analyseur.

Détermination semi-quantitative

Pour l'analyse semi-quantitative des échantillons, utiliser le calibrateur Multi-drogues, Seuils Primaires ou Secondaires avec le calibrateur Négatif et les calibrateurs Multi-drogues Moyen et Haut pour analyser les résultats. L'appareil doit être recalibré à chaque changement de réactifs et en cas d'écart dans les valeurs de contrôle. Chaque aboratoire doit établir sa propre fréquence de contrôle.

Il est important de prévoir la vérification quotidienne des échantillons de patients et de la calibration effectuée à l'aide d'échantillons de contrôle. Il est recommandé d'effectuer deux contrôles de qualité: l'un de 25% supérieur au seuil sélectionné, l'autre de 25% inférieur au seuil sélectionné. Les valeurs de contrôle obtenues doivent se situer dans un domaine de contrôle défini. En cas de tendance à la hausse ou à la baisse ou de deviation soudaine dans les valeurs de contrôle, tous les paramétres de l'analyse doivent étre revus. Pour plus de renseignements s'adresser au service technique Micogenics. Toutes les exigences de contrôle qualité doivent être appliquées conformément aux règlements locaux, régionaux et nationaux ou aux conditions d'agrément.

Résultats et valeurs théoriques

Le calibrateur seuil sert de référence pour distinguer les échantillons positifs et les échantillons négatifs. Les échantillons pour lesquels on obtient une response value supérieure ou égale à celle obtenue pour le calibrateur sont considérés comme positifs. Les échantillons pour lesquels on obtient une response value inférieure à celle du calibrateur sont considérés comme négatifs. Pour les analyseurs Hitachi, les échantillons dont le taux d'extinction est positif ou égal à zéro sont considérés comme positifs ; les échantillons dont le taux d'extinction est négatif sont considérés comme négatifs. Toutes les valeurs positives sont marquées avec la lettre „H" ; tous les échantillons inférieurs au seuil sont précédés d'un signe moins. Pour les autres analyseurs, se référer à la fiche technique spécifique de chaque appareil pour plus d'informations.

Résultats semi-quantitatifs

Les appareils Hitachi calculent automatiquement la concentration relative estimée en EDDP de chaque échantillon. Pour les autres analyseurs, se référer à la fiche technique spécifique de chaque appareil pour informations détaillées. L'interprétation des résultats doit aussi prendre en compte le fait que les concentrations urinaires peuvent varier de façon considérable en fonction de l'apport de liquides et d'autres variables biologiques.

Limitations

1. Un résultat positif indique la présence d'EDDP dans l'échantillon ; il ne donne pas d'informations concernant la présence ni le degré d'intoxication.
2. La présence dans l'échantillon d'autres substances non énumérées de même que les erreurs techniques ou de manipulation peuvent conduire à des résultats erronés.
3. Un échantillon à concentration de méthadone élevée peut produire un résultat EDDP positif lors de la transformation thermique par GC/MS de la méthadone en EDDP. [12]

Performances spécifiques

Les résultats de performance types indiqués ci-dessous ont été obtenus avec un appareil Hitachi 717. [13] Les résultats obtenus dans chaque laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

Des études mesurant la précision à l'aide de réactifs et de calibrateurs fournis dans le coffret, ont donné les résultats suivants avec un analyseur Hitachi 717 en observant les directives d'une expérience de réplication modifiée NCCLS.

Détermination qualitative (mA/min):

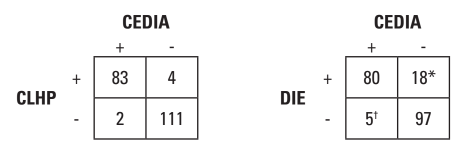
	Inter-série			Intra-série		
Enchantillon	$\bar{x}$	SD	CV%	$\bar{x}$	SD	CV%
Contrôle -25%	244,1	2,78	1,1	244,2	5,6	2,3
Calibrateur seuil	271,9	2,69	1,0	263,8	6,8	2,6
Contrôle +25%	276,7	3,63	1,3	284,0	7,8	2,7

Détermination semiquantitative (ng/mL):

	Inter-série			Intra-série		
Enchantillon	$\bar{x}$	SD	CV%	$\bar{x}$	SD	CV%
Contrôle -25%	73,6	2,21	3,0	74,3	4,3	5,8
Calibrateur seuil	90,8	3,76	4,1	100,0	4,3	4,3
Contrôle +25%	122,3	4,95	4,1	130,9	6,6	5,0

Exactitude

Cent quatre-vingt-un échantillons et 19 échantillons positifs dilués ont été dosés sur l'appareil Hitachi 717 avec le test CEDIA EDDP (détermination qualitative); un test par CLHP (chromatographie liquide à haute pression) et un dosage immunoenzymatique (DIE) disponible dans le commerce ont été utilisés comme référence. Les résultats suivants ont été obtenus :



		CEDIA +	CEDIA -
CLHP	+	83	4
	-	2	111

		CEDIA +	CEDIA -
DIE	+	80	18*
	-	5†	97

* Seize des 18 échantillons présentant un résultat différent étaient négatifs avec la méthode CLHP avec un seuil de 100 ng/mL. Les valeurs obtenues avec la méthode CLHP sont les suivantes : dans six échantillons, on n'a pas détecté d'EDDP ; Pour les autres échantillons, les résultats sont 2, 11, 13, 42, 56, 60, 64, 86, 89 et 90 ng/mL d'EDDP. Les valeurs obtenues par la méthode CLHP pour les deux derniers échantillons sont 106 et 122 ng/mL d'EDDP.

† Pour trois des échantillons présentant un résultat différent, cette discordance était due à la différence de concentration seuil des deux tests immunoenzymatiques. Les valeurs obtenues par la méthode CLHP pour ces échantillons sont 104, 120 et 143 ng/mL d'EDDP. Les valeurs obtenues par la méthode CLHP pour les deux derniers échantillons sont 70 et 347 ng/mL d'EDDP.

Spécificité

Les composés similaires et les métabolites suivants ont provoqué une réaction croisée avec le test CEDIA EDDP:

Composé	Concentration Testée (ng/mL)	% Réaction Croisée
EDDP	100	100
EMDP	200 000	0,004
Méthadone	600 000	0,016
α-lévo-acétylméthadol	1 000 000	0,000
α-lévo-noracétylméthadol	1 000 000	0,001
α-levo-dinoracétylméthadol	1 000 000	0,000

Des composés à structure non apparentée ont été testés avec le test CEDIA EDDP et ont donné une réponse < 100 ng/mL pour les concentrations listées ci-dessous.

Composé	Concentration Testée (ng/mL)	Composé	Concentration Testée (ng/mL)
Acétaminophène	500 000	Doxylamine	500 000
Acide acétylsalicylique	500 000	Enalapril	500 000
Acide salicylurique	500 000	Fluoxétine	500 000
Amoxicilline	500 000	Ibuprofène	500 000
Amphétamine	100 000	Lévothyroxine	500 000
Benzoylecgonine	100 000	Méthamphétamine	100 000
Captopril	500 000	Morphine	100 000
Chlordiazepoxide	100 000	Nifédipine	500 000
Cimétidine	500 000	Phénobarbital	100 000
Codéine	100 000	Propoxyphène	100 000
Dextrométhorphan	175 000	Ranitidine	500 000
Diazépam	100 000	Sécobarbital	100 000
Digoxine	100 000	11-nor-Δ^9-THC-COOH	9 330
Diphenhydramine	500 000	Vérapamil	500 000
Disopyramide	1 000 000		

Aucune interférence n’a été observée lorsque les substances suivantes ont été ajoutées aux concentrations endogènes normales trouvées dans les urines soumises au test CEDIA EDDP:

Substance	Concentration testée	Substance	Concentration testée
Acétone	≤ 1,0 g/dL	Gammaglobuline	≤ 0,5 g/dL
Acide ascorbique	≤ 1,5 g/dL	Glucose	≤ 1,0 g/dL
Acide oxalique	≤ 0,1 g/dL	Hémoglobine	≤ 0,3 g/dL
Chlorure de sodium	≤ 6,0 g/dL	Riboflavine	≤ 7.5 mg/dL
Créatinine	≤ 0,5 g/dL	Séralbumine humaine	≤ 0,5 g/dL
Ethanol	≤ 1,0 g/dL	Urée	≤ 1,3 g/dL
Galactose	≤ 10 mg/dL		

Sensibilité
Pour l’analyse qualitative, la limite de détection (LOD) se situait à 6,3 ng/mL. Pour l’analyse semi-quantitative, la limite de détection se situait à 2,0 ng/mL.

Bibliographie

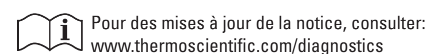
1. Hawks RL. Analytical methodology. In: Hawks RL, Chiang CN, eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph. 1986; 73:30-41.
2. Baselt RC, Cravey RH. Disposition of toxic drugs and chemicals in man. 3ème éd. Chicago: Year Book Medical Publishers; 1989.
3. AHFS drug information. American Hospital Formulary Service, 1992.
4. Julien RM. A primer of drug action. 5ème éd. NY: WH Freeman, 1988.
5. Physician’s desk reference. 49ème éd. Montvale, NJ: Medical Economics Data Production Co; 1995.
6. Katzung BG. Basic and clinical pharmacology. 6ème éd. Norwalk, CT: Appleton & Lange; 1995.
7. Facts and comparisons: Loose-leaf drug information service. St. Louis, MO: Facts and Comparisons; 1990.
8. Goldman FR, Thistel CI. Diversion of methadone: Illicit methadone use among applicants to two metropolitan drug abuse programs. Int J Addict. 1978;13: 855-862.
9. Henderson DR, Friedman SB, Harris JD, et al. CEDIA, a new homogeneous immunoassay system. Clin Chem. 1986; 32:1637-1641.
10. Notice Of Mandatory Guidelines For Federal Workplace Drug Testing Program: Final guidelines. Federal Register. 1994;110 (June9):11983. (Revised guidelines expected 2002).
11. Données traçables déposées auprès de Microgenics Corporation, une division de Thermo Fisher Scientific.
12. Galloway FR, Bellet NF. Methadone conversion to EDDP during GC-MS analysis of urine samples. J Anal Toxicol. 1999; 23: 615-619.13.
13. Données de Microgenics, une division de Thermo Fisher Scientific.



Microgenics Corporation
46360 Fremont Blvd.
Fremont, CA 94538-6406 États-Unis
Soutien client et technique
aux États-Unis :
1-800-232-3342



EC REP
Thermo Fisher Scientific Oy
Ratastie 2, P.O. Box 100
01621 Vantaa, Finland
Tel: +358-9-329100
Fax: +358-9-32910300



Autres pays:
Contacter le représentant local Thermo Fisher Scientific.

10006492-2_FR
2012 06

